

AN - 1989-170530 [25]  
 AP - JP19870268754 19871024  
 CPY - KYOW  
 DC - B02  
 FS - CPI  
 IC - A61K31/40 ; C07D487/14  
 MC - B02-M B12-G05 B12-G07  
 M2 - [01] D011 D019 D025 D030 E330 G010 G020 G030 G040 G050 G100 G221 G530  
 G543 G553 G563 G573 G583 H1 H100 H141 H2 H211 H5 H521 H583 H584 H721  
 H722 H8 J0 J011 J2 J231 J251 J271 K0 L4 L463 L499 L6 L660 L9 L951 M220  
 M221 M222 M223 M224 M225 M226 M231 M232 M233 M240 M262 M272 M281 M282  
 M311 M312 M313 M321 M322 M323 M331 M332 M340 M342 M349 M373 M381 M383  
 M391 M392 M393 M412 M511 M520 M530 M531 M540 M541 M710 M800 M903 M904  
 P220 P632 P633 V0 V131; 00417 12848; 8923-21201-N; 1704-X 1724-X  
 1711-X 1714-X  
 M5 - [02] M710 M903 M904 P220 P632 P633 S131 S132 S133 S134 S203 S207 S212  
 S317 S503 S507 S512 S700 S730 S740 S760 S762 S800 S830 T500 T530 T600  
 T638 U323 U332 U550; 12848; 8923-21201-N; 1704-X 1724-X 1711-X 1714-X  
 PA - (KYOW ) KYOWA HAKKO KOGYO KK  
 PN - JP1113391 A 19890502 DW198923 010pp  
 PR - JP19870268754 19871024  
 XA - C1989-075833  
 XIC - A61K-031/40 ; C07D-487/14  
 AB - J01113391 Mitomycin derivs. of formula (I) are new; where R = an acyl  
 residue where the OH gp. is eliminated from the carboxyl gp. of a  
 fat-soluble or water-soluble carboxylic acid. The fat-soluble  
 carboxylic acid is an 8-20C straight or branched (un)satd. aliphatic  
 carboxylic acid, 3-8C of alicyclic carboxylic acid, or steroids having  
 carboxyl or aromatic carboxylic acid. The water-soluble carboxylic  
 acid is of formula (II), where R1 and R2 = the same or different and  
 are H or methyl.  
 - USE/ADVANTAGE - Mitomycin derivs. (I) are Mitomycin C derivs. having  
 improved oil-solubility or water-solubility and regenerate Mitomycin C  
 in vivo. Mitomycines are known as antibiotics having antibacterial  
 activity and antioncotic activity. Mitomycin C have strong antioncotic  
 activity and wide antioncotic spectra and Mitomycin C has a striking  
 effect to various carcinoma on human organs, sarcoma and leukemias.  
 AW - BENZOYL OXY METHYL CARBONYL  
 AKW - BENZOYL OXY METHYL CARBONYL  
 CN - 8923-21201-N  
 DRL - 1704-X 1711-X 1714-X 1724-X  
 IW - NEW MITOMYCIN DERIVATIVE USEFUL ANTIBIOTIC BENZOYLOXY METHYL OXY  
 CARBONYL MITOMYCIN  
 IKW - NEW MITOMYCIN DERIVATIVE USEFUL ANTIBIOTIC BENZOYLOXY METHYL OXY  
 CARBONYL MITOMYCIN  
 NC - 001  
 OPD - 1987-10-24  
 ORD - 1989-05-02  
 PAW - (KYOW ) KYOWA HAKKO KOGYO KK  
 RRL - 00417 12848  
 TI - New mitomycin derivs. useful as e.g. antibiotics - e.g.

BEST AVAILABLE COPY

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平1-113391

⑬ Int.Cl.<sup>4</sup>  
C 07 D 487/14  
// A 61 K 31/40

識別記号 庁内整理番号  
ADU 7430-4C  
ADV  
ADZ

⑭ 公開 平成1年(1989)5月2日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全10頁)

⑮ 発明の名称 マイトマイシン誘導体

⑯ 特 願 昭62-268754

⑰ 出 願 昭62(1987)10月24日

⑱ 発 明 者	斎 藤 裕	東京都町田市成瀬2-18-1	ボブラケ丘コープ12-203
⑱ 発 明 者	河 野 一通	東京都町田市木曽町1132-8	
⑱ 発 明 者	白 幡 公勝	東京都狛江市岩戸南4-11-5	
⑱ 発 明 者	河 西 政次	神奈川県藤沢市鵠沼松ヶ岡3-12-15	
⑱ 発 明 者	森 本 真	静岡県駿東郡長泉町下土狩203-5	
⑱ 発 明 者	芦 沢 忠	静岡県沼津市大岡3236-13	
⑱ 出 願 人	協和発酵工業株式会社	東京都千代田区大手町1丁目6番1号	

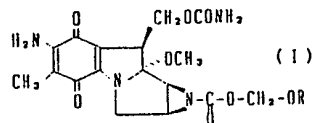
明 細 書

1. 発明の名称

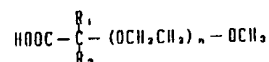
マイトマイシン誘導体

2. 特許請求の範囲

式(1)



〔式中、Rは脂溶性または水溶性カルボン酸のカルボキシル基より水酸基を除くアシル残基を示す。ここで脂溶性カルボン酸は炭素数8〜20の直鎖または分岐状の飽和および不飽和脂肪酸カルボン酸、炭素数3〜8の脂環式カルボン酸、カルボキシル基を有するステロイド類または芳香族カルボン酸を表わし、水溶性カルボン酸は



(式中、R<sub>1</sub> および R<sub>2</sub> は同一または異なって水

素原子またはメチル基を表わし、nは2〜4の整数を表わす)を表わす)で表わされるマイトマイシン誘導体。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

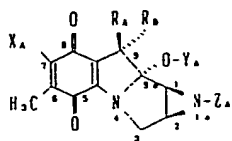
本発明は生体内でマイトマイシンCを再生する脂溶性あるいは水溶性の向上されたマイトマイシンC誘導体に関する。

従来の技術

マイトマイシン類は抗菌活性、抗腫瘍活性を有する抗生物質として一般に知られている。代表的なマイトマイシンとしてはマイトマイシンA、マイトマイシンB、マイトマイシンC、ポリフィロマイシン(以上はメルクインディクス 第10版に記載されている。)、マイトマイシンD、マイトマイシンE(以上は特開昭54-122797に記載されている。)、マイトマイシンF(特開昭55-45322に記載されている。)、マイトマイシンG、マイトマイシンH(以上は特開昭55-15408に記載されている。)等がある。これらのマイトマイシン類

はストレプトミセス・ケスピトーサスの菌株を培養することにより得ることができる。以上の天然界から得られるマイトマイシン類の構造を第1表に示す。

第1表 天然から得られるマイトマイシン類の構造



マイトマイシン	X <sub>A</sub>	Y <sub>A</sub>	Z <sub>A</sub>	R <sub>A</sub>	R <sub>B</sub>
A	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> OCONH <sub>2</sub>	H
B	OCH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> OCONH <sub>2</sub>
C	NH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> OCONH <sub>2</sub>	H
D	NH <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> OCONH <sub>2</sub>
E	NH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> OCONH <sub>2</sub>
F	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OCONH <sub>2</sub>	H
G	NH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	一体となって	=CH <sub>2</sub>
H	OCH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	一体となって	=CH <sub>2</sub>
J	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> OCONH <sub>2</sub>
K	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	一体となって	=CH <sub>2</sub>
マイトマイシン	NH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OCONH <sub>2</sub>	H

マイトマイシン類の中でも、マイトマイシンCは強い抗腫瘍活性と広い抗腫瘍スペクトルを有し、

また、マイトマイシンCにおいて、その脂溶性が向上した誘導体として、1a位のアジリジン部に

ウレタン結合 ( $\text{>N}^{\text{1a}}\text{-CO}_2\text{R}$ ) を有する、例

えば、1a-ベンジロキシカルボニルマイトマイシンC、1a-ニコキシカルボニルマイトマイシンC (以下文献1) が、同じく1a位にアミド

結合 ( $\text{>N}^{\text{1a}}\text{-COR}$ ) を有する例えば1a-ベン

ジルカルボニルマイトマイシンC (文献2)、

1a-リノレオイルマイトマイシンC (文献3) が知られている。また、1a位にアシロキシメチ

ル基 ( $\text{>N}^{\text{1a}}\text{-CH}_2\text{OCOR}$ ) を有する例えば

1a-ベンゾイルオキシメチルマイトマイシンC (文献2, 4) が開示されている。

文献1: Chem. Pharm. Bull., 31, 4083(1983)

文献2: Int. J. Pharm., 15, 49(1983)

文献3: 特開昭50-89398

文献4: Int. J. Pharm., 15, 61(1983)

人間の各種臓器癌、肉腫および白血病等に著効を示し、現在、癌の化学療法剤として臨床的に広く用いられている薬剤である。しかしながら、例えば骨髄毒性等の副作用を有するため、薬物投与が制限される場合もあり、薬物の体内動態の改善等による治療効果を改善し得る新しい投与形態に適用できるマイトマイシンC誘導体の開発が望まれている。

生物薬剤学分野において、このような生体内動態の改善を図る手段の一つとして薬物を化学的に修飾した化合物を生体内で酵素的あるいは非酵素的な作用により親化合物に再生させ、薬物活性を発現させる、いわゆるプロドラッグ (Prodrug) とする方法が知られている。例えば特開昭60-23359号公報には薬物のアミノ基を(アシロキシアルコキシ)カルボニル基で修飾したプロドラッグが開示されている。しかしながら、該公報には薬物としてマイトマイシン類の記載は無く、またこれまで(アシロキシアルコキシ)カルボニル基を有するマイトマイシン類は知られていない。

しかしながら、これらの化合物においてはプロドラッグとしての化学的安定性、生体内でのマイトマイシンCへの再生等において満足する化合物は得られていない。

すなわち、ウレタン結合を有する化合物においては人血清中ではマイトマイシンCの再生は遅く(上記文献1)、また、アシロキシメチル基を有する化合物においては結合が不安定で、例えばpH7.4リン酸緩衝液中においても速やかに開裂する(上記文献4)。他方、水溶性が向上した誘導体としてのマイトマイシンCのプロドラッグは知られていない。

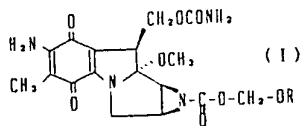
新たな投与形態に適用できる脂溶性または水溶性を付与し、溶解剤中では安定で、かつ生体内で速やかにマイトマイシンCを再生するマイトマイシンC誘導体が求められている。

#### 発明が解決すべき問題点

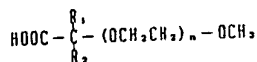
本発明の目的は脂溶性または水溶性が付与されたマイトマイシンC誘導体を提供することにある。

## 問題点を解決するための手段

本発明は式(Ⅰ)



〔式中、Rは脂溶性または水溶性カルボン酸のカルボキシル基より水酸基を除くアシル残基を示す。ここで脂溶性カルボン酸は炭素数8～20の直鎖または分岐状の飽和および不飽和脂肪族カルボン酸、炭素数3～8の脂環式カルボン酸、カルボキシル基を有するステロイド類または芳香族カルボン酸を表わし、水溶性カルボン酸は

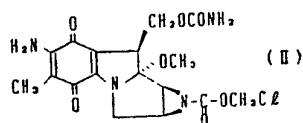


〔式中、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>は同一または異なって水素原子またはメチル基を表わし、nは2～4の整数を表わす〕を表わす〕を表わされるマイトマイシン誘導体に関する。

なお、式(Ⅰ)で表わされる化合物を以下化合

次に化合物(Ⅰ)の製造法について説明する。

化合物(Ⅰ)は、マイトマイシンCとクロロギ酸クロロメチルとを塩基の存在下反応して得られる下記化合物(Ⅱ)〔Ia-(クロロメチルオキシカルボニル)マイトマイシンC〕と



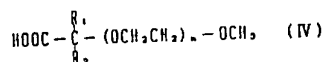
化合物(Ⅲ)

ROM (Ⅲ)

〔式中、Rは前記と同義であり、MはROMとしてカルボン酸の塩を表わす〕

とを、不活性溶媒中反応することにより得ることができる。

Rの定義において、化合物(Ⅳ)で表わされる原料の水溶性



〔式中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>およびnは前記と同義である〕

物(Ⅰ)という(他の式番号の化合物についても同様に表わす)。

式(Ⅰ)の定義中、炭素数8～20の直鎖または分岐状の飽和脂肪族カルボン酸としては、オクタン酸、デカン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸等が、また不飽和脂肪族カルボン酸としては、オレイン酸、リノール酸、アラキドン酸等が包含される。炭素数3～8の脂環式カルボン酸としては、シクロプロパンカルボン酸、シクロヘキサンカルボン酸等が挙げられる。カルボキシル基を有するステロイド類としてはコール酸、デオキコール酸等が挙げられる。芳香族カルボン酸における芳香族とは置換もしくは非置換のフェニル、ナフチル基等を意味し、置換基としては、メチル、エチル等の低級アルキル基、メトキシ、エトキシ等のアルコキシ基およびフッ素、塩素、臭素、ヨウ素等のハロゲン原子が包含される。芳香族カルボン酸の具体的例としては、安息香酸、トルイル酸、アニス酸、クロロ安息香酸、ナフトエ酸等が挙げられる。

カルボン酸類の中でR<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>が共に水素である化合物は既知化合物であり、Carbohydr. Res., 78 205(1980) (nが3の場合)およびLiebig's Ann. Chem., 858(1980) (nが2と4の場合)に記載されている。その他のカルボン酸類は新規化合物であるが、Synthesis, 42(1981)およびBull. Chem. Soc. Japan, 55, 2181(1982)等に記載の方法に準じて合成することができる。ROMとして定義されるカルボン酸の塩としては、例えば、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属塩、マグネシウム、カルシウム等のアルカリ土類金属塩または銀塩等の金属塩、さらには例えば、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン等の有機塩基塩等が包含される。

反応は化合物(Ⅱ)に対して化合物(Ⅲ)を1から10当量、好ましくは2から5当量用いる。カルボン酸の塩は単離して用いてもよく、または反応系内においてカルボン酸と塩基より調製し単離せずに用いてもよい。この場合には反応系にモレキュラーシーブ等の脱水剤を加えることが好ま

しい。また反応系にヨウ化物、例えばヨウ化ナトリウム、ヨウ化カリウム等を共存させ、化合物(II)よりIa-(ヨードメチルオキシカルボニル)マイトマイシンCを経て、化合物(III)と反応することも可能である。

反応溶媒はジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、アセトニトリル、ヘキサメチルホスホラミド等の不活性溶媒が単独または混合して用いられる。

反応温度は用いる溶媒の沸点以下で行えるが、25℃から90℃が好適である。反応時間は用いる溶媒、温度等により異なるが、1時間から7日である。

反応終了後は濾過、抽出、結晶化および各種クロマトグラフィー等の通常の方法により目的物である化合物(I)を得ることができる。

#### 作 用

本発明の式(1)で表されるマイトマイシンC誘導体は脂溶性あるいは水溶性を有し、溶解剤中では安定であるが、血清中でマイトマイシンCを

再生する。これらの化合物はマイトマイシンCのプロドラッグとして有用である。

以下に、本発明に含まれる化合物のうちからいくつかの化合物を例にとって実験例によりこれらの優れた特性を具体的に説明する。

実験例で用いられている化合物の構造は第8表に示す。

#### 実験例1

リピオドール ウルトラ フルイド (Lipiodol Ultra Fluid<sup>®</sup>) に対する溶解性

化合物3 14mgを1mlのリピオドール(Lipiodol)(小玉株式会社、製造元 ラボラトクール・ケルベ・フラスン)に加え激しく振盪した。該化合物の沈殿を認めなかったことより、溶解量を14mg/ml以上と求めた。

マイトマイシンCのLipiodolへの溶解量は以下のようにして求めた。メノウ乳鉢でよくすりつぶした10mgのマイトマイシンCをLipiodol 8ml中に加え、20分間激しく振盪した。溶解しなかったマイトマイシンCはエキクロディスク (EKICRODISC)

(販売元 ゲルマンサイエンスジャパン株式会社、製造元 クラボウ)を用いて濾別した。このようにして調製した濾液(マイトマイシンCを溶解したLipiodol溶液)250.5mgにクロロホルムを加え2.5mlにした。一方、同重量のLipiodolにクロロホルムを加え2.5mlとし、これを対照とした。Lipiodol中への溶解量は、クロロホルム中でのマイトマイシンCの波長355nmにおけるモル吸光係数( $\epsilon=54,100$ )を用いて吸光光度法により求めた。その結果を第2表に示す。

第2表から明かなように化合物3はマイトマイシンCに比べ、1900倍以上の高い脂溶性を示す。

第 2 表

化 合 物	溶 解 度		相 対 比 <sup>a)</sup>
	重 量 (mg/ml)	モル数 ( $\mu\text{mol/ml}$ )	
化 合 物 3	>14	>27	>1900
マイトマイシンC	4.6	0.014	1

a) マイトマイシンCを1とした時の値

#### 実験例2

水に対する溶解性

試験化合物5mgを100 $\mu\text{l}$ の蒸留水に加え、22℃で15分間攪拌したのち、全量をEKICRODISC(ゲルマンサイエンスジャパン社、水系0.45 $\mu\text{m}$ )を用いて濾過し、不溶物を除去した。この濾液は試験化合物の飽和溶液である。この飽和溶液の一定量を高速液体クロマトグラフ(カラム: YMC-A312(C<sub>18</sub>) $\phi$ 6mm、150mm、溶出溶媒: 0.01M-酢酸アンモニウム/メタノール系、検出波長: 254nm)に注入し、ピーク面積を求めた。一方、濃度既知の試験化合物のメタノール溶液を用いて検量線を作製し、その検量線によって試験化合物の溶解度を計算した。結果を第3表に示す。

第 3 表

化 合 物	濃度 (飽和水溶液)		相 対 比 <sup>a)</sup>
	重 量 (mg/ml)	モル濃度 ( $\mu\text{mol/ml}$ )	
化 合 物 6	28.0	45.7	8.0
化 合 物 8	24.5	39.1	6.9
化 合 物 9	21.5	33.6	5.9
マイトマイシン C	1.9	5.7	1

a) マイトマイシンCを1とした時の値

第3表から明らかなように、各試験化合物において水溶性が増大している。

## 実験例 3

水溶液中での安定性

リン酸緩衝液 (0.03 M、pH 7.0) に試験化合物を溶解後、 $21 \pm 1^\circ\text{C}$  に放置し、経時的にサンプリングした。高速液体クロマトグラフを用い、実験例2と同様の方法より各試験化合物の積分面積の減少より半減期を求めた。結果を第4表に示す。

第 5 表

化合物	人血清中での半減期	対照実験での半減期
化合物 6	4.0 min	4 hr
化合物 8	7.5 min	10 hr
化合物 9	23.5 min	10.5 hr

各試験において各試験化合物の減少量に相当するマイトマイシンCの再生が観測され、第5表から明らかなように人血清の作用により、速やかにマイトマイシンCを再生する。また、式(1)中の $R_1$ 、 $R_2$ の変換により再生速度を変化させることができる。

## 実験例 5

サルコーマ180固型腫瘍に対する抗腫瘍活性および毒性

実験は以下の方法により行った。

## (1) サルコーマ180固型腫瘍に対する効果

$5 \times 10^4$ 個のサルコーマ180細胞をddymマウスの腹腔内に移植し、7日目の腹水から細胞

第 4 表

化 合 物	半減期 (hr)
化 合 物 6	5.0
化 合 物 8	13.0
化 合 物 9	15.0

第4表から明らかなように、これらの化合物は水溶液中で十分に安定である。

## 実験例 4

人血清中での安定性

食塩7.65g、リン酸一水素ナトリウム・12水塩1.83gおよびリン酸二水素カリウム0.21gの蒸留水1ℓの溶液 (pH 7.2) に各試験化合物を溶解し ( $2\text{mmol/l}$ ) 試料溶液とした。健康人より採取した血清200 $\mu\text{l}$ に各試料溶液200 $\mu\text{l}$ を加え、 $37^\circ\text{C}$ で振盪しつつ経時的にサンプリングして、実験例3と同様に、各試験化合物の半減期を求めた。対照実験として血清の代わりに上記媒質を用い、各試験化合物の半減期を求めた。結果を第5表に示す。

を採取し、滅菌生理食塩水で1回洗浄後、滅菌生理食塩水で $5 \times 10^4$ 個/mlの細胞浮遊液を作製した。この0.1mlを体重 $20 \pm 2\text{g}$ のddym雄性マウスの右腋窩部皮下に移植した。試験化合物は、生理食塩水、またはTween 80含有生理食塩水に溶解し、腫瘍移植後24時間目に1群5匹のマウス腹腔内に0.1~0.2mlを投与した。薬剤の抗腫瘍活性の測定は、移植後7日目に腫瘍の直径(a)と短径(b)を測定し、腫瘍体積に相当する $a \times b^2/2$ の値を求めた。対照群(C)に対する薬物投与群(T)の体積比(T/C)によって抗腫瘍効果をあらわした。

(2)  $ED_{50}$ の求め方

サルコーマ180固型腫瘍体積を非投与対照群の腫瘍体積の50%に低下させる投与量を $ED_{50}$ とした。縦軸に通常目盛でT/C、横軸に対数目盛で投与量を表したグラフに、各投与量におけるT/Cをプロットし、投与量とT/Cの関係を最小二乗法により直線としてもとめた。得られた直線の回帰式より、T/Cが0.5を示す投与量を計

算した。

### (3) 急性毒性

LD<sub>50</sub>はd d yマウスに薬剤を1回腹腔内に投与し、1群5匹のマウスの投与後14日間の生死を観察し、各投与群の死亡率より、ペーレンス・ケルバー法に従いLD<sub>50</sub>を算出した。

化合物(1)の中からいくつかの化合物を例にとり、サルコマー180固型腫瘍に対する抗腫瘍活性と毒性を第6表および第7表に示す。

第 6 表

化合物	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	LD <sub>50</sub> * <sup>a)</sup> (mg/kg)	ED <sub>50</sub> (mg/kg)	ED <sub>50</sub> * <sup>b)</sup> (mg/kg)
化合物1	12.0	7.3	3.7	2.2
化合物2	12.0	7.1	6.0	3.6
化合物3	27.2	13.5	9.0	4.5
化合物4	27.2	10.8	10.5	4.2
マイトマイシンC	8.4	8.4	3.2-6.6	3.2-6.6

$$a) \quad LD_{50}^* = LD_{50} \times \frac{\text{マイトマイシンCの分子量}}{\text{試験化合物の分子量}}$$

$$b) \quad ED_{50}^* = ED_{50} \times \frac{\text{マイトマイシンCの分子量}}{\text{試験化合物の分子量}}$$

ることを示唆している。

以上の実験例が示す通り、本発明の化合物(1)は広く臨床で用いられているマイトマイシンCと比較して脂溶性あるいは水溶性が付与されたマイトマイシンCのプロドラッグであることがしめされ新しい投与形態への適用が期待される。例えば水溶性誘導体では静脈注射等に用いた場合に有利な性質となり、一方、脂溶性誘導体においては腸管吸収率を高め、エマルジョン、リポソーム等の新たな剤型への適用も可能となる。

化合物(1)は抗腫瘍剤として有用であり、必要に応じ、少なくとも1種の製剤上の希釈剤、補助剤または担体と共に用いることができる。例えば各々の化合物を哺乳動物特に人に対し0.06～5mg/kgの投与量で、生理食塩水、ブドウ糖注射液、ラクトース注射液、マンニット注射液に溶解して注射液として通常静脈内に投与する。さらに、同様の投与量で動脈内投与、腹腔内投与、胸腔内投与も可能である。また日本薬局方に基づいて凍結乾燥してもよいし、塩化ナトリウムを加えた粉

第 7 表

化合物	投 与 量		T/C
	[D] (mg/kg)	[D*] (mg/kg) <sup>a)</sup>	
化合物5	12.5	7.3	0.11
化合物6	12.5	6.7	0.34
化合物9	12.5	6.5	0.28
マイトマイシンC	6.0	6.0	0.15-0.43

$$a) [D^*] = [D] \times \frac{\text{マイトマイシンCの分子量}}{\text{試験化合物の分子量}}$$

第6表から明らかなように、各試験化合物をマイトマイシンCの投与量に換算した急性毒性(LD<sub>50</sub>\*)、抗腫瘍活性(ED<sub>50</sub>\*)は実験誤差の範囲においてマイトマイシンCのそれらとよい一致を示しており、毒性、抗腫瘍活性の面からもマイトマイシンCが再生されていることを示唆している。また、第7表からも、試験化合物のマイトマイシンC重量換算の投与量([D\*])とT/Cとはよい相関を示しており、各試験化合物がマウス体内において、マイトマイシンCを再生してい

末注射剤としてもよい。さらに医薬品の用途を満たした塩類のような、よく知られた薬学的に許容されている希釈剤(リンゲル液)、補助剤(ポリエチレングリコール、HCO-60(界面活性剤、日光ケミカル社製))、エタノールおよび/または担体(エマルジョン、リポソーム、サイクロデキストリン)を含んでもよい。投与量は年齢や症状により適宜増減できる。投与スケジュールも症状や投与量によって変えることができるが、たとえば週1回あるいは3週間に1回などの間歇投与がある。また同様の投与量、投与方法で経口投与、直腸投与も可能である。経口投与に際しては適当な補助剤と共に、錠剤、粉剤、粒剤、シロップ剤、坐剤等として投与できる。

以下に、実施例、参考例および製剤例をあげて本発明を具体的に説明する。

#### 実施例

以下に示す実施例および参考例で示される物理化学的データは次の機器類によって測定された。

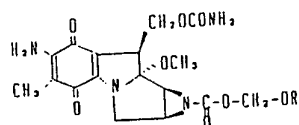
IR: Shimadzu IR-27G

NMR: Varian EM 390, JEOL FX-100

MS: Hitachi M-800.

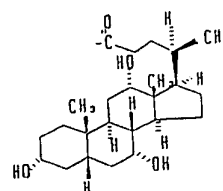
実施例で得られる化合物(1)の代表例の構造は第8表に示す通りである。

第 8 表

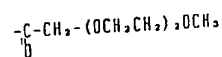


化合物	R
化合物 1	
化合物 2	
化合物 3	

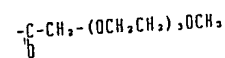
化合物 4



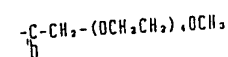
化合物 5



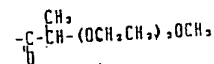
化合物 6



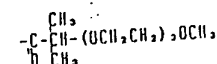
化合物 7



化合物 8



化合物 9



## 実施例 1

1a - [ [(ベンゾイルオキシ)メチル]オキシ]カルボニル]マイトマイシンC (化合物1)

参考例1で得た1a - (クロロメチルオキシカルボニル)マイトマイシンC (化合物a) 200

mgを12mlのジメチルホルムアミドに溶解し、92mgのヨウ化ナトリウムと200mgの安息香酸ナトリウムを加え、室温で3.5日間攪拌した。反応液に水を加えクロロホルムで抽出し、クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、クロロホルム-アセトン(6:4, v/v)で展開し、青紫色の画分を集め、溶媒を減圧下に留去し、黒紫色のペースト状の化合物1 152mg (収率59%)を得た。化合物1の物理化学的性質は第9表および第10表に示す。

## 実施例 2~4

上記と同様な操作により脂溶性の化合物2~4を合成した。

それらの原料および得られた化合物(1)の収率およびMSデータを第9表に、またIRおよびNMRデータを第10表に示す。

第 9 表

実施例 (化合物番号)	原料	収率 (%)	SI-MS(m/z)	分子式 分子量
実施例 1 (化合物1)	安息香酸ナトリウム塩	59	514 (M <sup>+</sup> +2)	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 512
実施例 2 (化合物2)	ナフタレン酸カリウム塩	41	564 (M <sup>+</sup> +2)	C <sub>23</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 562
実施例 3 (化合物3)	リノール酸カリウム塩	30	672 (M <sup>+</sup> +2)	C <sub>33</sub> H <sub>50</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 670
実施例 4 (化合物4)	コロール酸カリウム塩	25	800 (M <sup>+</sup> +2)	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 798



化合物	IR (KBr) $\text{cm}^{-1}$	NMR (100MHz, Pyridine- $d_5$ ) $\delta$ (主ピーク)
化合物 1	3450, 3320, 2910, 1728, 1604, 1564, 1343, 1249, 1060	1.99 (3H, s), 3.19 (3H, s), 6.18 (1H, d), 6.21 (1H, d), 7.46 (3H, m), 8.02 (2H, m)
化合物 2	3450, 3340, 2910, 1724, 1604, 1565, 1342, 1234, 1086, 1070, 1003	1.98 (3H, s), 3.18 (3H, s), 6.26 (1H, d), 6.32 (1H, d), 7.25 ~ 7.65 (3H, m), 7.81 ~ 8.02 (2H, m), 8.23 (1H, dd), 9.13 (1H, d)
化合物 3	3450, 3325, 3210, 2910, 2850, 1734, 1607, 1565, 1345, 1076	0.86 (3H, t), 1.48 ~ 2.35 (16H, m), 2.00 (3H, s), 2.08 (4H, m), 2.28 (2H, t), 2.90 (2H, t), 3.18 (3H, s), 5.47 (4H, m), 5.93 (1H, d), 6.01 (1H, d)
化合物 4	3445, 3350, 2920, 1721, 1604, 1555, 1341, 1074	0.76 (3H, s), 0.99 (3H, s), 1.07 (3H, d), 0.8 ~ 2.4 (24H, m), 2.00 (3H, s), 2.40 ~ 3.30 (3H, m), 3.18 (3H, s), 5.94 (1H, d), 6.02 (1H, d)

化合物 5 ~ 7 および 9 を合成した。

それらの原料および得られた化合物 (1) の収率および MS データを第 11 表に、また NMR データを第 12 表に示す。

第 11 表

実施例 (化合物番号)	原料	収率 (%)	SI-MS ( $m/z$ )	分子式、分子量
実施例 6 (化合物 5)	$\text{HO}_2\text{CCH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$	42	570 ( $M^+ + 2$ )	$\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_{13}$ 568
実施例 7 (化合物 6)	$\text{HO}_2\text{CCH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{OCH}_3$	21	614 ( $M^+ + 2$ )	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_{13}$ 612
実施例 8 (化合物 7)	$\text{HO}_2\text{CCH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_4\text{OCH}_3$	37	658 ( $M^+ + 2$ )	$\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_{13}$ 656
実施例 5 (化合物 8)	$\text{HO}_2\text{CCH}(\text{CH}_3)(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$ (参考例 2)	37	628 ( $M^+ + 2$ )	$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_{13}$ 626
実施例 9 (化合物 9)	$\text{HO}_2\text{CC}(\text{CH}_3)_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{OCH}_3$ (参考例 3)	37	642 ( $M^+ + 2$ )	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_{13}$ 640

## 実施例 5

1a-【{[(2-メチル-3,6,9,12-テトラオキサトリデカノイル)オキシ]メチル}オキシ]カルボニル】マイトマイシン C (化合物 8)

参考例 2 で得た 2-メチル-3,6,9,12-テトラオキサトリデカン酸 9.3 mg を 1 ml のジメチルホルムアミドに溶解し、2.3 mg の酸化銅、8.5 mg の化合物 a および粉砕したモレキュラーシーブ (5 Å) を加え、窒素雰囲気下 75℃ で 3.5 時間攪拌した。固型物を濾別後、飽和食塩水を加え、クロロホルムで抽出した。クロロホルム層は無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧に溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、酢酸エチル-メタノール (95:5, v/v) で展開し、実施例 1 と同様な操作を行うことにより、黒紫色のペースト状の化合物 8 4.6 mg (収率 37%) を得た。化合物 8 の物理化学的性質は第 11 表および第 12 表に示す。

## 実施例 6 ~ 9

上記と同様な操作を行うことにより、水溶性の

第 12 表

化合物	NMR(100MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ (主なピーク)
化合物5	1.77(3H, s), 3.19(3H, s), 3.38(4H, s, m), 3.59(6H, m), 3.71(5H, m), 4.18(1H, t), 4.22(2H, s), 4.47(1H, d), 4.85(1H, dd), 4.97(2H, bs), 5.28(2H, bs), 5.75(2H, ABq), 1.77(3H, s), 3.19(3H, s), 3.39(4H, s, m), 3.65(15H, s, m), 4.20(2H, t), 4.25(2H, ABq), 4.47(1H, d), 4.85(1H, dd), 5.09(2H, bs), 5.27(2H, bs), 5.73(2H, ABq), 1.77(3H, s), 3.19(3H, s), 3.38(4H, s, m), 3.66(19H, s, m), 4.18(1H, t), 4.23(2H, ABq), 4.47(1H, d), 4.89(1H, dd), 5.16(2H, bs), 5.39(2H, bs), 5.75(2H, ABq), 1.40(3H, d), 1.77(3H, s), 3.19(3H, s), 3.39(4H, s, m), 3.64(15H, s), 4.10(1H, q), 4.17(1H, t), 4.47(1H, d), 4.86(1H, dd), 5.24(2H, bs), 5.48(2H, bs), 5.76(2H, ABq), 1.42(6H, s), 1.77(3H, s), 3.19(3H, s), 3.39(4H, s, m), 3.65(15H, s, m), 4.17(1H, t), 4.47(1H, d), 4.89(1H, dd), 5.16(2H, bs), 5.43(2H, bs), 5.75(2H, ABq)

NMR(100MHz, Pyridine-d<sub>5</sub>) δ: 2.04(3H, s), 3.19(3H, s), 3.59(1H, dd), 3.60(1H, dd), 3.92(1H, d), 4.01(1H, dd), 4.69(1H, dd), 4.70(1H, d), 5.49(1H, dd), 5.96(2H, s), 約7.6(4H, bs)

## 参考例2

2-メチル-3,6,9,12-テトラオキサトリデカン酸

20gのトリエチレングリコールモノメチルエーテル(3,6-エトリオキサデカノール)に710mgの金属ナトリウムを加え加熱し溶解した。2.33gの2-ブロモプロピオン酸を加え、100℃で5時間加熱後、過剰の未反応3,6,9-エトリオキサデカノールを減圧下留去した。6mlの3規定塩酸を加えた後、不溶の塩を濾別し、濾液を減圧下で濃縮し、標記の粗カルボン酸を得た。精製を容易にするためメチルエステル体にした。すなわちこの粗カルボン酸を20mlのメタノールに溶解し、0.4mlの濃硫酸を加え、10時間加熱還流した。炭酸ナトリウム水で中和後、クロロホルムで抽出し、乾燥後溶媒を減圧下留去した。残渣をシ

## 参考例1

1-α-クロロメチルオキシカルボニルマイトマイシンC(化合物a)

501mgのマイトマイシンCを25mlのテトラヒドロフランに溶解し、0.25mlのトリエチルアミンを加え、氷冷下に0.13mlのクロロギ酸クロロメチルのテトラヒドロフラン溶液5mlを滴下した。室温で2時間攪拌後、反応液に氷水を加え、酢酸エチルで抽出し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下に留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付しクロロホルム-メタノール(95:5, v/v)で展開し、青色の画分を集めた。溶媒を減圧下にて濃縮し、少量のアセトンに溶解し、n-ヘキサンを加え粉末化し、溶媒を減圧下留去後、十分乾燥することにより、黄色粉末の化合物a 602mg(収率95%)を得た。

SI-MS: m/z 428(M<sup>+</sup>+2), C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>CL=426.5

IR(KBr) cm<sup>-1</sup>: 3450, 3350, 1740, 1720, 1600, 1560, 1550, 1340, 1250, 1075

リカゲルカラムクロマトグラフィーに付しクロロホルム-アセトン(9:1, v/v)で展開し、溶媒を留去後、淡黄色油状物の2-メチル-3,6,9,12-テトラオキサトリデカン酸メチルエステル2.44g(収率61%)を得た。

次いでエステルを加水分解しカルボン酸を再生した。すなわち、2.28gのメチルエステル体を15.3mlの水に溶解し、610mgの苛性カリウムを加え、一時間加熱還流した。冷却後、DOWEX 50W×4(H<sup>+</sup>型)に付し、水で溶出し、水を減圧下留去することにより標記カルボン酸2.13g(収率98%)を得た。

EI-MS: m/z 237(M<sup>+</sup>+1), C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>O<sub>6</sub>=236

IR(neat) cm<sup>-1</sup>: 3460, 2890, 1730, 1455, 1345, 1240, 1195, 1110, 940, 845

NMR(90MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.44(3H, d), 3.39(3H, s), 3.60~3.70(12H, bs), 4.05(1H, q), 10.3(1H, s)

## 参考例3

2,2-ジメチル-3,6,9,12-テトラオキサト

## リデカン酸

2-ブロモプロピオン酸に代えα-ブロモイソ酪酸を用い、参考例2と同様の方法で標記カルボン酸メチルエステルを収率35%で得た。参考例2と同様にエステルを加水分解することにより、標記カルボン酸を98%で得た。

EI-MS:  $m/z$  251 ( $M^+$ ),  $C_{11}H_{22}O_2=250$

IR(neat)  $cm^{-1}$ : 3450, 2930, 1725, 1465, 1360,

1240, 1090, 1090, 980, 840

NMR(90MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.46(6H, s), 3.39(3H,

s), 3.60~3.70(12H, bs), 10.3(1H, s)

## 製剤例1 注射剤

化合物8 5gを蒸留水1000mlに溶解した後、ミリポアフィルター(孔径0.22 $\mu$ )で加圧濾過して無菌化を行う。得られる無菌濾液1.0mlを褐色バイアルに分注し(主薬5mg/バイアル) -50℃で2時間凍結後、室温-10℃、真空度0.1mmHgで24時間一次乾燥を行う。室温と品温が一致したことを確認後、室温30℃、真空度0.1mmHgで4時間二次乾燥を行い、水分を除去

する。ゴム栓を施し打栓する。これに用時、滅菌生理食塩水5mlを加え、充分振とう攪拌して溶解し、注射液を調製する。

## 製剤例2 エマルジョン製剤

無菌ゴマ油20ml、無菌HCO-60(界面活性剤、日光ケミカル社製)、滅菌水78mlよりなる溶媒に、化合物1の無菌粉末400mgを加え、超音波処理する。得られたエマルジョンを2.5mlずつ無菌的にバイアルに分注し、ゴム栓をする。

## 発明の効果

本発明により、脂溶性または水溶性が付与されたマイトマイシンC誘導体が提供され、マイトマイシンCのプロドラッグとして有用である。

特許出願人 (102) 協和 醗 酵 工 業 株 式 会 社

代表者 加 藤 幹 夫



## 手続補正書(自発)

昭和62年12月4日



特許庁長官 殿

## 1. 事件の表示

昭和62年特許願第268754号

## 2. 発明の名称

マイトマイシン誘導体

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

郵便番号 100

住所 東京都千代田区大手町一丁目6番1号

名称 (102) 協和 醗 酵 工 業 株 式 会 社

(TEL: 03-282-0036)

代表者 加 藤 幹 夫



## 4. 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

## 5. 補正の内容

(1) 明細書第5頁6行目の「(以下文献1)」を

「(以上、文献1)」に訂正する。

(2) 同書第8頁12行目の「デオキシコール酸」を

「デオキシシコール酸」に訂正する。

(3) 同書第12頁13行目の「ベ・フランス」を

「ベ・フランス」に訂正する。

(4) 同書第13頁第2表中のマイトマイシンCの溶

解度「4.6」を「0.0046」に訂正する。

(5) 同書第16頁下から5行目の「 $\mu$ え加え」を

「 $\mu$ え加え」に訂正する。

(6) 同書第28頁12行目の「減圧に溶媒」を

「減圧下に溶媒」に訂正する。

(7) 同書第34頁下から5行目および第35頁10

行目の「NHR」を「NMR」に訂正する。

(8) 同書第35頁9行目の「1240, 1090, 1090, 980」

を「1240, 1090, 980」に訂正する。

(9) 同書第36頁6行目の「社製」、滅菌水」を

「社製」2ml、滅菌水」に訂正する。

**This Page Blank (uspto)**